

カフェンストロール、ジフェノコナゾール、シプロコナゾール、シメトリン、チフルザミド、テトラコナゾール、テブコナゾール、トリアジメノール、フルジオキシニル、プロピコナゾール、ヘキサコナゾール及びペンコナゾール試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

農薬等の成分である物質	分析対象化合物
カフェンストロール	カフェンストロール
ジフェノコナゾール	ジフェノコナゾール
シプロコナゾール	シプロコナゾール
シメトリン	シメトリン
チフルザミド	チフルザミド
テトラコナゾール	テトラコナゾール
テブコナゾール	テブコナゾール
トリアジメノール	トリアジメノール
フルジオキシニル	フルジオキシニル
プロピコナゾール	プロピコナゾール
ヘキサコナゾール	ヘキサコナゾール
ペンコナゾール	ペンコナゾール

2. 装置

アルカリ熱イオン化検出器又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ及びガスクロマトグラフ・質量分析計を用いる。

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

カフェンストロール 本品はカフェンストロール 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 116℃である。

ジフェノコナゾール 本品はジフェノコナゾール 97%以上を含む。

融点 本品の融点は 76℃である。

シプロコナゾール 本品はシプロコナゾール 98%以上を含む。

融点 本品の融点は 103～105℃である。

シメトリン 本品はシメトリン 98%以上を含む。

融点 本品の融点は 82～83℃である。

チフルザミド 本品はチフルザミド 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 178～179℃である。

テトラコナゾール 本品はテトラコナゾール 97%以上を含む。

分解点 本品の分解点は 240° である。

テブコナゾール 本品はテブコナゾール 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 102~103℃である。

トリアジメノール 本品はトリアジメノール 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 133~138℃である。

フルジオキシニル 本品はフルジオキシニル 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 199~200℃である。

プロピコナゾール 本品はプロピコナゾール 97%以上を含む。

融点 本品の融点は 180℃(減圧・0.013kPa)である。

ヘキサコナゾール 本品はヘキサコナゾール 97%以上を含む。

融点 本品の融点は 110~112℃である。

ペンコナゾール 本品はペンコナゾール 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 57~61℃である。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

(1) 穀類、豆類及び種実類の場合

検体を 420 μ m の標準網ふるいを通して粉砕した後、その 10.0 g を量り採り、水 20 mL を加え、2 時間放置する。

これにアセトン 100 mL を加え、3 分間粉砕した後、ケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン 50 mL を加え、3 分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下で約 30 mL 中に濃縮する。

これをあらかじめ 10%塩化ナトリウム溶液 100 mL を入れた 300 mL の分液漏斗に移す。*n*-ヘキサン 100 mL を用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、*n*-ヘキサン層を 300 mL の三角フラスコに移す。水層に *n*-ヘキサン 50 mL を加え、上記と同様に操作して、*n*-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら 15 分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで *n*-ヘキサン 20 mL を用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を 2 回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下で *n*-ヘキサンを除去する。

この残留物に *n*-ヘキサン 30 mL を加え、100 mL の分液漏斗に移す。これに *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。*n*-ヘキサン層に *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、上記と同様の操作を 2 回繰り返し、アセトニトリル層をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下でアセトニトリルを除去する。この残留物に *n*-ヘキサン 5 mL を加えて溶かす。

(2) 果実、野菜、ハーブ、抹茶及びホップの場合

果実、野菜及びハーブの場合は、検体約 1 kg を精密に量り、必要に応じ適量の水を量って加え、細切均一化した後、検体 20.0 g に相当する量を量り採る。

抹茶の場合は、検体 5.00 g を量り採り、水 20 mL を加え、2 時間放置する。

ホップの場合は、検体を粉碎した後、その 5.00 g を量り採り、水 20 mL を加え、2 時間放置する。

これにアセトン 100 mL を加え、3 分間細砕した後、ケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン 50 mL を加え、3 分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C 以下で約 30 mL に濃縮する。

これをあらかじめ 10% 塩化ナトリウム溶液 100 mL を入れた 300 mL の分液漏斗に移す。*n*-ヘキサン 100 mL を用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、*n*-ヘキサン層を 300 mL の三角フラスコに移す。水層に *n*-ヘキサン 50 mL を加え、上記と同様に操作して、*n*-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら 15 分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで *n*-ヘキサン 20 mL を用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を 2 回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C 以下で *n*-ヘキサンを除去する。この残留物に *n*-ヘキサン 5 mL を加えて溶かす。

(3) 抹茶以外の茶の場合

a ジフェノコナゾール、テトラコナゾール及びプロピコナゾールの試験を行う場合

検体 9.00 g を 100°C の水 540 mL に浸し、室温で 5 分間放置した後、ろ過し、冷後ろ液 360 mL を 500 mL の三角フラスコに移す。これに飽和酢酸鉛溶液 2 mL を加え、室温で 1 時間静置した後、ケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過し、ろ液を 1,000 mL の分液漏斗に移す。次いでアセトン 50 mL を用いてろ紙上の残留物を洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。

これに塩化ナトリウム 100 g 及び *n*-ヘキサン 100 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、*n*-ヘキサン層を 300 mL の三角フラスコに移す。水層に *n*-ヘキサン 100 mL を加え、上記と同様に操作して、*n*-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら 15 分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで *n*-ヘキサン 20 mL を用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を 2 回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C 以下で *n*-ヘキサンを除去する。この残留物に *n*-ヘキサン 5 mL を加えて溶かす。

b テブコナゾール、トリアジメノール、ヘキサコナゾール及びペンコナゾールの試験を行う場合

抹茶以外の茶を粉碎したものについて(2) 果実、野菜、ハーブ、抹茶及びホップの場合の抹茶に従って操作する。

2) 精製

内径 15 mm、長さ 300 mm のクロマトグラフ管に、カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム 10 g を *n*-ヘキサンに懸濁したもの、次いでその上に無水硫酸ナトリウム 5 g を入れ、カラム上端に少量の *n*-ヘキサンが残る程度まで *n*-ヘキサンを流出させる。このカラムに 1) 抽出で得られた溶液を注入した後、アセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 19) 混液 100 mL を注入し、流出液は捨てる。次いでアセトン及び *n*-ヘキサン (3 : 7) 混液 100 mL を注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40°C 以下でアセトン及び *n*-ヘキサンを除去する。この残留物にアセトンを加えて溶かし、正確に 4 mL として、これを試験溶液とする。

5. 操作法

1) 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。

操作条件

カラム：内径 0.25 mm、長さ 30m のケイ酸ガラス製の細管に、ガスクロマトグラフィー用メチルシリコンを 0.25 μ m の厚さでコーティングしたもの。

カラム温度：100°C で 1 分間保持し、その後毎分 30°C で昇温する。250°C に到達後、毎分 6°C で昇温し、300°C に到達後 2 分間保持する。

試験溶液注入口温度：250°C

注入方法：スプリットレス

検出器：280°C で操作する。

ガス流量：キャリアーガスとしてヘリウムを用いる。カフェンストロールが約 12 分で流出する流速に調整する。空気及び水素の流量を至適条件に調整する。

2) 定量試験

1) 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき、ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

3) 確認試験

1) 定性試験と同様の操作条件でガスクロマトグラフィー・質量分析を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。また、必要に応じ、ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

6. 定量限界

カフェンストロール 0.01 mg/kg

ジフェノコナゾール 0.01 mg/kg

シプロコナゾール 0.005 mg/kg

シメトリン 0.01 mg/kg

チフルザミド 0.01 mg/kg

テトラコナゾール 0.02 mg/kg

テブコナゾール 0.005 mg/kg

トリアジメノール 0.01 mg/kg

フルジオキサニル 0.005 mg/kg
プロピコナゾール 0.01 mg/kg
ヘキサコナゾール 0.01 mg/kg
ペンコナゾール 0.01 mg/kg

7. 留意事項

- 1) ジフェノコナゾール及びプロピコナゾールについては、定性、定量及び確認試験において、それぞれ2本のピークとして検出されるため、両ピークの面積の合計により検量線を作成する必要がある。
- 2) 定量限界は、果実、野菜及びハーブを試料とした場合の値を示したものであり、穀類、豆類及び種実類の場合は概ね2倍、茶及びホップの場合は概ね4倍の値となる。基準値が定量限界より低い試料の場合は、試験溶液を濃縮する、ガスクロマトグラフへの注入量を増やすなどによって対応する。

8. 参考文献

なし

9. 類型

A